

Aus dem
Blutspendezentrum Basel und aus dem Rhesuslaboratorium
(Leiter: P.-D. Dr. E. Berger)
des Kinderspitals Basel
(Direktor: Prof. E. Freudenberg)

**Über das Vorkommen
eines «natürlichen» Anti-M-Agglutinin
in dem Blutserum eines Menschen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der Universität
BASEL

Vorgelegt von
RAYMOND BATTEGAY
Ipsach (Bern)

1952
Druck von Benno Schwabe & Co.
Basel

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. *J. Tomcsik*

Tag der Promotion: 22. November 1952



Aus dem Blutspendezentrum Basel und aus dem Rhesus-
laboratorium (Leiter: P.-D. Dr. E. Berger) des Kinderspitals Base
(Direktor: Prof. E. Freudenberg)

Über das Vorkommen eines «natürlichen» Anti-M-Agglutinin in dem Blutserum eines Menschen

Von R. Battagay

Die Blutfaktoren M und N sind bekanntlich dadurch charakterisiert, daß sie Agglutinogene besitzen, die normalerweise nur auf künstlichem Wege, und zwar durch Immunisierung von Kaninchen, nachweisbar sind, während der korrespondierende Antikörper bei der Species Mensch nicht vorkommt. Im Gegensatz zu den Anti-A-, bzw. Anti-B-Antikörpern, welche als Isoantikörper zu qualifizieren sind, handelt es sich bei den Anti-M-, bzw. Anti-N-Antikörpern also um Heteroantikörper (*Landsteiner* und *Levine* 1, 2, 3).

In sehr seltenen Fällen können aber Anti-M- oder Anti-N-Antikörper als Isoantikörper auftreten, d. h. beim Menschen vorkommen, wie uns eine eigene Beobachtung lehrt, die wir wiedergeben wollen, weil diese Fälle bisher keine zusammenfassende Darstellung gefunden haben.

Als Gründe für das Vorkommen «natürlicher» Anti-M- oder Anti-N-Antikörper im Blutserum werden von den einzelnen Autoren im wesentlichen zwei Ursachen angegeben:

1. Das Auftreten wird auf eine *konstitutionelle Anlage* zurückgeführt (*Friedenreich* 4, *Gammelgaard* 5). Diese Aussage stellt für den Immunologen eine unbefriedigende Erklärung dar, weil bei dem Auftreten von Anti-M-, bzw. Anti-N die supponierte Konstitution in keinem Falle belegt worden ist.

Anders liegt es mit der zweiten Deutung, nach der das Anti-M, bzw. das Anti-N durch *Immunisierung* erzeugt worden ist, wobei der Weg ein zweifacher sein kann.

a) Einzelne oder wiederholte Bluttransfusionen (*Wiener* und *Forer* 6, *Wiener, Gordon* und *Mazzarino* 7, *Broman* 8, *Malone* und *Cowen* 9, *Savonen* 10, *Collins, Sanger, Allen* und *Race* 11, *Callender* und *Race* 12, *Singer* 13).

b) Eine Gravidität (*De Kromme* und *Van der Spek* 15, *Gasser* und *Grumbach* 14).

Die übrigen Arbeiten über Anti-M und Anti-N im menschlichen Blutserum, die noch in der Literatur zu finden sind, lassen die Frage der Entstehungsursache dieser «natürlichen» Antikörper offen (*Dahr* 16, *Moureau* und *Lambert* 17, *Davidsohn* 18, *Wolff* und *Jonsson* 19, *Sekiya* 20, *Race* 21, *Allott* und *Holman* 22, *Phansomboon, Ikin* und *Mourant* 23, *Dick* 24, *Taylor* 25, *Iseki* und *Fukao* 26).

Das von uns oben erwähnte Anti-M wurde bei der Untersuchung einer Spenderin A. M. gefunden, deren Blutkörperchen folgende genauen Eigenschaften besaßen:

A₁, NN, CDe/cde, Le^a-, Le^b+, P+.

Als wir, zwecks Sicherstellung unserer A-, B-Befunde dazu übergingen, das Blutserum der betreffenden Spenderin mit Testblutkörperchen A und B zu versetzen, fanden wir überraschenderweise bei der Kreuzprobe sowohl eine Agglutination von A-Blutkörperchen wie von B-Blutkörperchen, ein Befund, der zunächst in

Tabelle 1.

Blutgruppe Nr. der Spender	Reaktion*	Blutgruppe Nr. der Spender	Reaktion*
A 2265	—	O 2272	—
O 2266	—	O 2281	+
A 2282	++	O 2274	—
A 2270	++	O 2275	—
A 2284	+	O 2277	+
O 2271	+		

* Stärke der Reaktion wurde wie üblich durch die Zahl der Kreuze markiert.

Widerspruch mit der Blutgruppenzugehörigkeit als A₁ durch Testserum stand. Es ergab sich, daß offenbar in dem betreffenden Serum ein Sonder-Agglutinin vorhanden war, dessen Identifizierung von uns auf folgende Weise erfolgte:

Wir gingen so vor, daß wir wahllos das betreffende Serum Nr. 2254 mit verschiedenen A- und 0-Blutkörperchen bei Zimmertemperatur versetzten (Objektträgermethode), wobei die in Tabelle 1 angegebenen Resultate erhalten wurden.

Ein Blick auf diese Tabelle zeigt, daß das Serum Nr. 2254 positiv reagierte mit folgenden 0- und A-Blutkörperchen, der besseren Uebersicht wegen erneut zusammengestellt in Tabelle 2.

Tabelle 2.

Blutgruppe Nr. der Spender	Reaktion	Blutgruppe Nr. der Spender	Reaktion
A 2282	++	0 2271	+
A 2270	++	0 2281	+
A 2284	+	0 2277	+

Negative Reaktionen wurden erhalten mit folgenden Proben (s. Tab. 3):

Tabelle 3.

Blutgruppe Nr. der Spender	Reaktion	Blutgruppe Nr. der Spender	Reaktion
A 2265	—	0 2274	—
A 2266	—	0 2275	—
0 2272	—		

Um zu entscheiden, welche Agglutinogene in den Blutproben 2266, 2274, 2277, 2281 vorhanden sind, wurden sie bei Zimmertemperatur versetzt mit im Handel befindlichen Seren: 1. Anti-M, 2. Anti-N und 3. mit im Laboratorium vorhandenen Antisera: Anti-Le^b und Anti-P.

Tabelle 4.

Blutproben	Nr. der Spender			
	2266	2274	2281	2277
Anti-M	—	—	+	+
Anti-N	+	+	+	+
Anti-Le ^b	+	+	+	+
Anti-P	+	—	+	+
Serum Nr. 2254 . .	—	—	+	+

Ergebnis: Das Serum Nr. 2254 gab keine Reaktion mit den Blutproben 2266 und 2274, während die Blutproben 2281 und 2277

positive Reaktionen ergaben. Weiterhin ist aus der Tabelle zu folgern, daß Anti-N, Anti-Le^b und Anti-P in dem Serum Nr. 2254 nicht vorhanden waren. Da diese Antikörper ausgeschlossen werden müssen, drängt sich uns der Verdacht auf, daß das gesuchte Sonder-Agglutinin in dem Serum Nr. 2254 als Anti-M zu diagnostizieren ist, was wir durch folgende Kontrollversuche zu erhärten versuchten:

Tabelle 5.

Blutproben	Nr. der Spender		
	2271	2272	2284
Anti-M	+	—	+
Anti-N	—	+	+
Serum Nr. 2254 . .	+	—	+

Die Resultate mit dem Anti-M-Serum des Handels und mit dem Serum Nr. 2254 waren also wiederum gleich.

12 weitere Proben, die mit Anti-M-Serum und parallel mit dem Serum Nr. 2254 versetzt worden waren, zeigten identische Ergebnisse.

Um das von uns gefundene Anti-M in seinem verschiedenen Verhalten genauer kennen zu lernen, wurden noch folgende Versuche angesetzt:

Ermittlung des Titers und des Temperaturoptimums (s. Tab. 6a und 6b).

1. Blutkörperchen mit den Eigenschaften 0, MM, CDe/cde, P+.
2. Suspension 3%ig.
3. Volumen konstant.
4. Temperaturen und Verdünnung des Serums Nr. 2254, siehe Tab. 6a und 6b.

Tabelle 6a.

	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	Kontrolle	
18° C {	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	makroskopisch
	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	mikroskopisch
37° C {	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	makroskopisch
	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	mikroskopisch
2–4° C {	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	makroskopisch
	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	mikroskopisch

Interpolation bezüglich Verdünnung bei verschiedenen Temperaturen:
Volumen in jedem Röhrchen 1 cm³.

Tabelle 6b.

37° C			2-4° C			18° C			Serum mikroskopisch
0,8 ±	0,6 +	0,5 +	0,3 +	0,2 +	0,1 +	0,3 +	0,2 +	0,1 -	

Ergebnis: Der Agglutinationstiter war ein relativ geringer und das Optimum der Zusammenballung lag bei Zimmer- (18° C), bzw. bei Eisschranktemperatur (2-4° C). Mit anderen Worten: Das Anti-M-Agglutinin ist nicht als ein ausgesprochenes Kälteagglutinin anzusprechen, sondern bezüglich seines Verhaltens bei verschiedenen Temperaturen als ein «Intermediate»-Agglutinin zu bezeichnen.

Hämolyseversuch mit dem Serum Nr. 2254.

Der Ansatz hierfür wurde so durchgeführt, daß wir

1. Frisches Meerschweinchenserum als Komplement verwendeten (je 0,25 cm³ pro Röhrchen).
2. Blutkörperchen mit den Eigenschaften 0, MM, CDe/cde, P+ benutzten.

Tabelle 7.
Ablesung nach 30 Minuten.

1	2	3	4		Kontrollen	
					1 Ohne Komplement	2 Ohne Serum
1:1	1:2	1:4	1:8	Verdünnung des Serums	1:2	—
++	++	—	—	Komplement 1:10	++	—
++	++	+	—	Komplement 1:15	++	—

Ergebnis: Eine Hämolyse war *nicht* eingetreten, sondern die Reaktion des Serums Nr. 2254 mit den Blutkörperchen war wiederum nur durch das Auftreten einer Agglutination zu erkennen (in Tabelle 7 wie oben durch + markiert). Der Versuch wurde mehrmals wiederholt, unter gleichen Bedingungen, ohne daß sich das Resultat änderte.

Im letzten Versuch suchten wir die Agglutination in der Weise zu *steigern*, daß wir zu dem Serum Nr. 2254 und den gleichen, bisher benützten Erythrocyten Coombs-Serum zugeben.

Tabelle 8 (Anordnung wie in Tab. 7).

		3	4			Kontrolle 2 Ohne Serum
		±	—			+++
		±	—			+++

Eine Steigerung der Agglutination war nicht zu verzeichnen.

Interpretation der Befunde und ihre mögliche praktische Bedeutung.
Nachdem von anderen Autoren und in einem Fall von uns das Auftreten eines «natürlichen» Anti-M, bzw. Anti-N, nachgewiesen wurde, ergeben sich mehrere praktische Fragen, vor allem diejenige, auf welche Weise bei unserer Spenderin das Anti-M entstanden ist.

Da sich die Spenderin nicht mehr zur Verfügung stellte, war es uns nicht möglich, diesen Punkt der Abklärung näherzubringen und zu entscheiden, ob die Ursache für die Entstehung des Anti-M-Agglutinins bei der betreffenden Spenderin durch Blutinjektion, durch eine Gravidität oder auf «konstitutionellem» Wege entstanden war.

Für die *Praxis* kann aber das Vorkommen eines Anti-M-Faktors im Serum folgende Konsequenzen nach sich ziehen:

1. Bei der Identifizierung der Blutgruppen eines Menschen kann eine falsche Blutgruppe erkannt werden. In diesem Zusammenhang sei daran erinnert, daß die Zahl der falschen Blutgruppenbestimmungen in der Literatur auf 5% taxiert wird (*Bircher* 27). Herrn P.-D. Dr. *E. Berger* verdanke ich die mündliche Mitteilung, daß immer noch falsche Test-Seren von einer Zentralstelle ausgegeben werden. Ein Test-Serum gab ein falsches Resultat wegen seines Gehaltes an Anti-M-Agglutinin, das andere wegen der mäßigen Anwesenheit von Anti-P-Agglutinin. Die verschiedenen Folgerungen einer falschen Blutgruppenbestimmung liegen auf der Hand und brauchen hier nicht erwähnt zu werden.

2. Anders ist es, wenn ein Anti-M oder ein Anti-N (in offenbar starker Konzentration) in einem Blutserum auftritt, was für eine ganze Reihe von Fällen gilt, wie wir in der Einleitung kurz erwähnt haben. Unter diesen Bedingungen kann es zu schweren Transfusionskomplikationen kommen. Dies lehrt in eklatanter Weise der von *Broman* (8) beschriebene Fall, bei dem der Patient durch 8 Injektionen sensibilisiert wurde, für die als Spender viermal Personen mit der Blutgruppe MN verwendet wurden. Anschließend an die neunte Transfusion mit dem Blute eines MN-

Donors kam es zu einer schweren hämolytischen Reaktion, welche, wie die serologischen Untersuchungen erkennen ließen, auf die Bildung eines Anti-M-Agglutinins zurückgeführt werden mußte. Der Autor glaubte die Erzeugung des Anti-M-Agglutinins als Ursache des Zwischenfalls deswegen mit Recht anführen zu dürfen, weil spätere drei Transfusionen mit NN-Blut übertragen wurden. In diesem Zusammenhang sei auf die anaphylaktische Reaktion eines Kindes hingewiesen, welches erkrankt gewesen war auf Grund einer heterospezifischen Gravidität, wobei die Mutter ein Anti-N gebildet hatte, welches wahrscheinlich auf das Kind übertragen worden war. Die anaphylaxie-ähnlichen Erscheinungen bei dem Kind traten nach einer Transfusion auf, wobei N-Blutkörperchen verwendet worden waren (*Gasser und Grumbach 14*).

Eine große Bedeutung scheint dem Vorkommen von Anti-M-, bzw. Anti-N-Eigenschaften im menschlichen Blutserum trotzdem bisher nicht zuzukommen, und zwar vor allem deswegen, weil der Titer eines «natürlichen» Anti-M oder Anti-N zu gering ist.

Selbst wenn man die gewagte Annahme machen wollte, daß er höher ist, als wir es mit den üblichen Methoden *in vitro* nachzuweisen vermögen – der von uns angeführte, oben beschriebene Modellversuch mit dem Coombs-Test (*Coombs, Mourant und Race 28, Coombs und Race 29, Coombs, Mourant und Race 30, 31*) spricht nicht dafür, daß der Titer sich ohne weiteres steigern ließe –, erreicht er doch in der Regel nicht die Höhe, welche für die Auslösung von Komplikationen notwendig wäre.

Die Situation wird vielleicht eine andere werden, wenn die Zahl der Bluttransfusionen eine weitere Steigerung erfahren wird, bzw. wenn die Zahl der nicht mit Blut gespritzten Individuen in einer Population immer geringer wird. Dann wäre es denkbar, daß die Anti-M- oder Anti-N-Komplikationen eine Zunahme erfahren, die sich nicht nur auf die Transfusionszwischenfälle beschränkt, sondern auch Erythroblastosisfälle einschließt.

Will man die durch das Auftreten von Anti-M-, bzw. Anti-N-Agglutinin bedingten Störungen beseitigen oder analysieren, so bleibt nichts anderes übrig, als bei den Blutgruppenbestimmungen konsequent den sogenannten Kreuzversuch durchzuführen, eine Forderung, die keinen Anspruch auf Neuheit erhebt, aber trotzdem nicht durchwegs erfüllt wird.

Zusammenfassung. Bei einer Spenderin wurde in dem Blutserum ein «natürliches» Anti-M gefunden, das sowohl bei Eiskasten- und

Zimmertemperatur als auch bei Körpertemperatur – bis zu einem etwas niedrigeren Titer – reagierte.

In der Literatur ist gelegentlich das Vorkommen von Anti-M, bzw. Anti-N beschrieben oder erwähnt worden, wobei es zu Transfusionszwischenfällen oder zu dem Krankheitsbild der Erythroblastosis foetalis kam.

Durch die immer zahlreicher werdenden Bluttransfusionen und die damit verknüpfte Erhöhung der Sensibilisierungsmöglichkeiten, können die Antikörper Anti-M, bzw. Anti-N für die Klinik eine wachsende und nicht so geringe Bedeutung erlangen, wie es nach der jetzigen Seltenheit des Auftretens dieser Antikörper im menschlichen Serum zu schließen wäre.

Ueber die Entstehung des von uns beobachteten «natürlichen» Antikörpers vermögen wir keine Aussage zu machen, ganz abgesehen von der Tatsache, daß auch die Frage der Bildung anderer «natürlicher» Antikörper noch unabgeklärt ist.

Die sogenannte Kreuzprobe ist auch deswegen notwendig, weil noch in der letzten Zeit Test-Seren freigegeben werden, die infolge ihres Gehaltes an M- oder P-Agglutininen zu falschen Blutbestimmungen führen.

1. Landsteiner, K., und Levine, P.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **24**, 600 (1927). – 2. Landsteiner, K., und Levine, P.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **24**, 941 (1927). – 3. Landsteiner, K., und Levine, P.: J. exp. Med. **47**, 757 (1928). – 4. Friedenreich, V.: Z. Immunit.forsch. **91**, 485 (1937). – 5. Gammelgaard, A.: Nord. Med. **20**, 1932 (1943). – 6. Wiener, A. S., und Forer, S.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **47**, 215 (1941). – 7. Wiener, A. S., Gordon, E. B., und Mazzarino, C. A.: Proc. Soc. Biol. a. Med. **69**, 8 (1948). – 8. Broman, B.: Acta paediatr. (Schwd.) **31**, Suppl. II (1944). – 9. Malone, R. H., und Cowen, J.: Brit. med. J. **1950** I, 1299. – 10. Savonen, K.: Cold Haemagglutination Test and its Clinical Significance. Mercatorin, Kirjapaino, Helsinki 1948. – 11. Collins, J. O., Sanger, R., Allen, F. H., und Race, R. R.: Brit. med. J. **1950** I, 1297. – 12. Callender, S. T., und Race, R. R.: Ann. Eugen., Lond. **13**, 102 (1946). – 13. Singer, E.: Med. J. Austral. **1943**, 2, 29. – 14. Gasser, C., und Grumbach, A.: Helv. paed. Acta **4**, 54 (1949). – 15. De Kromme, L., und VanderSpek, L. A. M.: Brit. med. J. **1948** I, 643. – 16. Dahr, P.: Klin. Wschr. **20**, II, 1273 (1941). – 17. Mourreau, P., und Lambert, J.: C. r. Soc. Biol. Par. **131**, 148 (1939). – 18. Davidsohn, I.: J. amer. med. Assoc. **120**, 1288 (1942). – 19. Wolff, E., und Jonsson, B.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **22**, 65 (1933). – 20. Sekiya: Jap. J. med. Sci. **7**, 3 (1940) (zit. durch Dahr, P., 1948. Die Technik der Blutgruppen- und Blutfaktorenbestimmung. Georg Thieme Verlag, Stuttgart). – 21. Race, R. R.: Brit. med. Bull. **4**, 188 (1946). – 22. Allott, E. N., und Holman, C. A.: Lancet **253**, 130 (1947 II). – 23. Phansomboon, S., Ikin, E. W., und Mourant, A. E.: Lancet **257**, 285 (1949 II). – 24. Dick (1946) (zit. durch Phansomboon u. Mitarb. Lancet **257**, 285 (1949 II)). – 25. Taylor, G. L. (1944) zit. durch Callender und Race, Ann. Eugen., Lond. **13**, 102

(1946). – 26. *Iseki* und *Fukao*: 22. Tagg. d. Japan. Ges. f. gerichtl. Med. (zit. durch *Dahr*, P., 1948. Die Technik der Blutgruppen- und Blutfaktorenbestimmung. Georg Thieme Verlag, Stuttgart). – 27. *Bircher*, R. (1945). Schweizer Aerzte an der Ostfront 296. Graphische Anstalt Zofinger Tagblatt A.G., Zofingen, Schweiz. – 28. *Coombs*, R. R. A., *Mourant*, A. E., und *Race*, R. R.: *Lancet* **249**, 15 (1945 II). – 29. *Coombs*, R. R. A., und *Race*, R. R.: *Nature*, Lond. **156**, 233 (1945). – 30. *Coombs*, R. R. A., *Mourant*, A. E., und *Race*, R. R.: *Brit. J. exper. Path.* **26**, 255 (1945). – 31. *Coombs*, R. R. A., *Mourant*, A. E., und *Race*, R. R.: *Lancet* **250**, 264 (1946 I).

